



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

### **HPV e Carcinoma Pavimento Celular Nasossinusal**

Mariana Sofia Martins Pereira

---

**Abril'2019**



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

## **HPV e Carcinoma Pavimento Celular Nasossinusal**

Mariana Sofia Martins Pereira

**Orientado por:**

Dr. Paulo Borges Dinis

Dr. Marco Simão

---

**Abril'2019**

## Índice

<b>Abstract</b> .....	4
<b>Resumo</b> .....	4
<b>Glossário</b> .....	5
<b>Introdução</b> .....	6
<b>Carcinomas Pavimento Celulares Nasossinusais</b> .....	7
<b>Papel Oncogénico do HPV</b> .....	10
<b>Lesões precursoras dos Carcinomas Pavimento Celulares Nasossinusais e relação com HPV</b> .....	11
<b>Deteção de HPV nos Carcinomas Pavimento Celulares</b> .....	16
<b>Prognóstico</b> .....	20
<b>HPV e Prognóstico nos Carcinomas Pavimento Celulares Nasossinusais</b> .....	21
<b>Conclusão</b> .....	24
<b>Agradecimentos</b> .....	25
<b>Bibliografia</b> .....	26

## ***Abstract***

The role of human papillomavirus in head and neck malignancies has been a growing area of study in the last decades, namely due to the evidence that it implies a better clinical outcome in patients whose malignancy is positive for the virus. Although the majority of studies have been focused on the oropharynx, other locations, such as the sinonasal tract, have been hypothesized as also maintaining the positive clinical significance that the presence of the virus entails.

The goal of this work is to explore the recent studies regarding the possible relation between the virus and the development of squamous cell carcinoma in the nasal cavity and paranasal sinuses, including the rate of detection of the virus in carcinomas and precursor lesions associated, as well as the difference in prognosis with malignancies not associated with human papillomavirus.

Key words: HPV, sinonasal, carcinoma

## ***Resumo***

O papel do vírus do papiloma humano nas neoplasias da cabeça e do pescoço tem sido uma área crescente de estudo nas últimas décadas, nomeadamente devido à evidência que implica um melhor resultado clínico em doentes cuja neoplasia é positiva para o vírus. Apesar de a maioria dos estudos se terem focado na orofaringe, outras localizações, como o trato nasossinusal, têm sido hipotetizadas como mantendo o significado clínico positivo que a presença do vírus implica.

O objetivo deste trabalho é explorar os estudos recentes a respeito da possível relação entre o vírus e o desenvolvimento de carcinoma pavimento celular da cavidade nasal e seios perinasais, incluindo a taxa de deteção do vírus nos carcinomas e lesões precursoras associadas, bem como a diferença no prognóstico de neoplasias não associadas com o vírus do papiloma humano.

Palavras Chave: HPV, nasossinusal, carcinoma

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

## ***Glossário***

DNA: desoxirribonucleic acid | ácido desoxirribonucleico

HPV: Human papilloma virus | vírus do papiloma humano

ISH: *in situ* hybridization | hibridização *in situ*

mRNA: messenger ribonucleic acid | ácido ribonucleico mensageiro

PCR: polymerase chain reaction | reação de polimerase em cadeia

pRb: retinoblastome protein | proteína do retinoblastoma

RNA: ribonucleic acid | ácido ribonucleico

RT-PCR: real time polymerase chain reaction | reação de polimerase em cadeia em tempo real

## Introdução

Atualmente, está bem estabelecido que o vírus do papiloma humano tem um papel na patogénese de um subgrupo distinto de carcinomas pavimento celulares da cabeça e do pescoço.<sup>1</sup>

Apesar de a maioria dos carcinomas da cabeça e do pescoço relacionados com HPV ter origem na orofaringe, estudos recentes têm-se focado no trato nasossinusal como um possível 2º ‘*hot spot*’ anatómico para o desenvolvimento de carcinomas relacionados com HPV.<sup>2</sup>

Na orofaringe, os carcinomas relacionados com o HPV são histologicamente e clinicamente distintos dos carcinomas não relacionados com HPV. Os carcinomas da orofaringe relacionados com HPV apresentam-se mais frequentemente em estadio T precoce (T1 ou T2), com estadio N avançado (N2 ou maior), com envolvimento de níveis múltiplos de gânglios, e uma menor taxa de metástases à distância.<sup>3</sup> Atualmente é aceite que estes carcinomas têm um melhor prognóstico comparado com os HPV negativos, independentemente da modalidade de tratamento.<sup>4</sup> Para além disso, os doentes com carcinomas da orofaringe relacionados com HPV têm perfis de risco diferentes comparados com os doentes com neoplasia da orofaringe não relacionada com HPV, sendo uma maior fração dos doentes não fumadores e com menor exposição global a fumo, apresentando-se com uma idade ligeiramente inferior e estando associados a uma maior taxa de exposição sexual, particularmente de sexo oral.<sup>5</sup>

Assim, a deteção de HPV em carcinomas pavimento celulares da cabeça e do pescoço é agora considerada um marcador indicando *outcome* clínico favorável, tanto que a avaliação por rotina de HPV tornou-se uma avaliação patológica *standard* em todos os carcinomas da orofaringe.<sup>6</sup> A implementação de testes para deteção de HPV prende-se devido às diversas aplicações: está a emergir como um biomarcador válido para discernir a presença e progressão de doença, permitindo uma deteção mais precoce de cancro, um estadiamento mais preciso e uma seleção de doentes que mais provavelmente beneficiarão de tratamento específico, estando também indicados na vigilância pós tratamento.<sup>7</sup>

Em relação aos carcinomas do trato nasossinusal, na nova edição da classificação da Organização Mundial de Saúde, os carcinomas pavimento celulares relacionados com HPV não foram considerados presentemente como uma entidade

tumoral separada, como acontece com os da orofaringe, principalmente devido à falta de distinção clínica e patológica.<sup>8</sup> Numerosos estudos têm vindo a identificar HPV em tumores do trato nasossinusal, mas com taxas de deteção muitos diferentes – entre 0 e 100%. As inconsistências na deteção de HPV refletem os estudos realizados com métodos de deteção de HPV diferentes e populações de estudo divergentes que incluem ambos processos malignos como não malignos, como no caso dos papilomas schneiderianos.<sup>9</sup>

Assim, nos últimos anos têm sido realizados estudos com o objetivo de clarificar se o HPV tem um papel na carcinogénese dos carcinomas pavimento celulares nasossinusais, e se tal implica também uma melhoria no prognóstico dos doentes tal como ocorre na orofaringe.

## ***Carcinomas Pavimento Celulares Nasossinusais***

As neoplasias do trato nasossinusal constituem 5% de todos os cancros da cabeça e do pescoço, e menos de 1% das neoplasias globalmente, com uma incidência mundial de aproximadamente 1 caso em cada 100 000 habitantes por ano. Em geral, os carcinomas pavimento celulares constituem 50-80% de todas as neoplasias malignas nasossinusais, com a sua incidência a diminuir nas últimas décadas.<sup>10,11</sup> Estes permanecem a forma mais comum de neoplasia do trato nasossinusal, apesar de constituir uma proporção menor de subtipo de neoplasias comparativamente com os outros locais do trato aerodigestivo superior.<sup>2</sup>

Os carcinomas pavimento celulares nasossinusais ocorrem mais frequentemente em homens, com um rácio homem-mulher de 2,26:1.<sup>10,11</sup> A predominância masculina dos tumores nasossinusais resulta provavelmente do envolvimento etiológico das exposições ocupacionais a vários compostos industriais, associados à carcinogénese em até 40% das neoplasias nasossinusais, sendo responsável por cerca de 30% dos carcinomas pavimento celulares.<sup>12</sup> Profissionais que trabalham com madeira têm até 20 vezes o risco aumentado de carcinoma pavimento celular, comparado com a população geral. Em indivíduos que se apresentam com estas doenças, a exposição normalmente começa em idade precoce e muitas vezes persiste mais do que 20 anos. Para além do pó de madeira e cabedal, as substâncias químicas como colas, formaldeído, crómio, níquel e vários compostos utilizados na indústria têxtil foram associados aos carcinomas

nasossinusais, principalmente aos do tipo pavimento celular.<sup>13-16</sup> Em contraste com a maioria dos cânceros da cabeça e do pescoço, o tabagismo não parece ter um papel chave no desenvolvimento de tumores nasossinusais; no entanto, a evidência sugere que o fumo de tabaco pode aumentar o risco de carcinoma pavimento celular 2 a 3 vezes.<sup>11</sup>

A inflamação crônica tem sido igualmente invocada como um fator de risco para o desenvolvimento de tumores em várias partes diferentes do corpo, sendo a evidência nos carcinomas pavimento celulares nasossinusais limitada. Os estudos biológicos indiretos suportam a inflamação crônica na fisiopatologia da exposição industrial e o desenvolvimento de carcinomas pavimento celulares.<sup>17</sup> No entanto, as vias moleculares patogênicas que resultam em neoplasia permanecem desconhecidas. As poeiras orgânicas associadas ao desenvolvimento tumoral não são consideradas diretamente mutagênicas, mas estes materiais, por irritação contínua da mucosa, levam a inflamação crônica, um mecanismo reconhecido de carcinogênese em vários tipos de câncer. Assim, o processo inflamatório crônico é considerado um fator causal ou promotor na carcinogênese nos carcinomas do trato nasossinusal, particularmente em indivíduos expostos aos compostos industriais.<sup>12</sup>

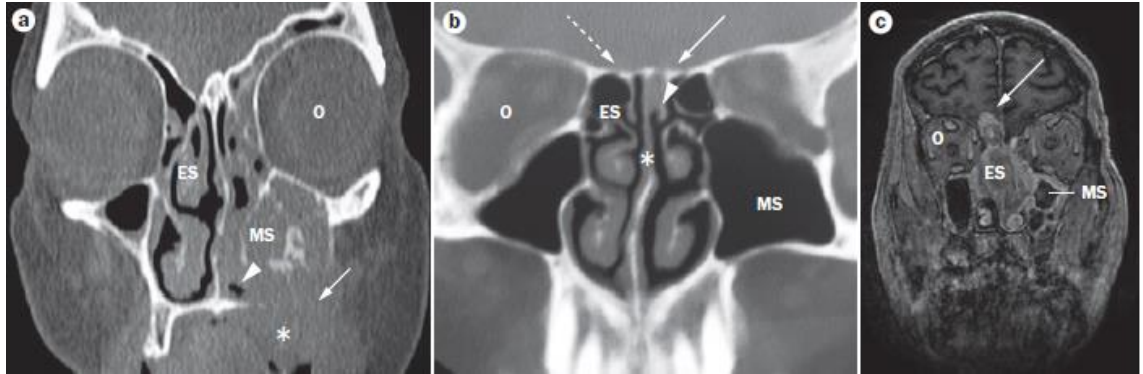
Em relação à transmissão de HPV, não é sabido como esta ocorre no trato nasossinusal. Os doentes com carcinoma pavimento celular da orofaringe relacionado com HPV têm menores taxas de tabagismo e uma maior taxa de exposição sexual, sendo esta a via de exposição a HPV de alto risco, mas, ao contrário do carcinoma pavimento celular da orofaringe, esta via não foi estabelecida para os de localização nasossinusal.<sup>2, 4, 5</sup>

A classificação histológica dos carcinomas pavimento celulares do trato nasossinusal permanece semelhante à dos outros locais. A maioria dos tumores são classificados como queratinizados ou não queratinizados, existindo também variantes morfológicas como o carcinoma pavimento celular basalóide, papilar ou de *spindle cell*.<sup>8</sup>

Clinicamente, os carcinomas pavimento celulares nasossinusais apresentam-se com características típicas mas relativamente inespecíficas. Os sintomas clínicos típicos, como a obstrução nasal, dor facial, rinorreia persistente e epistáxis são inespecíficos e muitas vezes indistinguíveis de sintomas de doentes com doença benigna. Aproximadamente 50% têm origem na cavidade nasal e 50% nos seios perinasais, predominantemente no seio maxilar.<sup>10-12</sup> Proptose e diplopia ou sintomas neurológicos

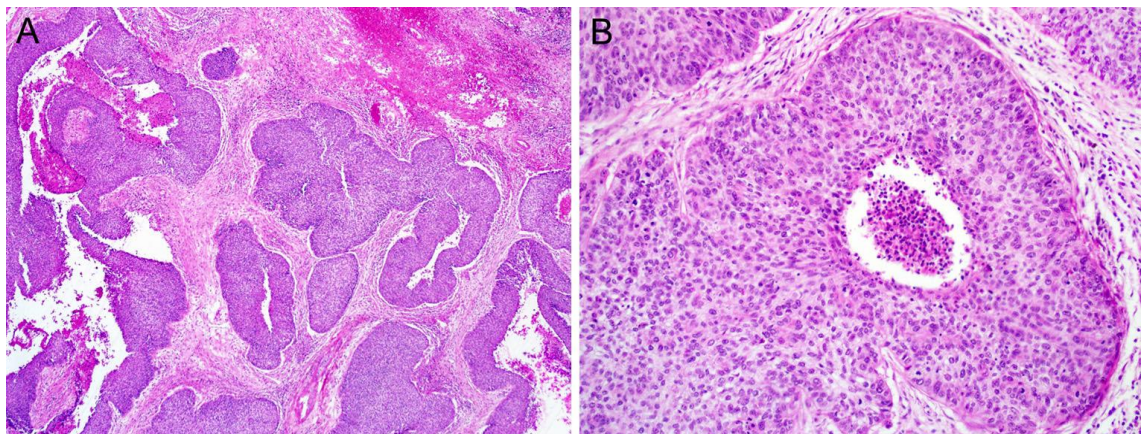


podem estar presentes em doentes com tumores em estadio avançado, devido à invasão das estruturas adjacentes. Devido à natureza inespecífica e relativamente ligeira dos sintomas em estadios precoces da doença, as neoplasias nasossinusais têm uma latência diagnóstica prolongada, ou seja, quando diagnosticados apresentam-se numa fase mais avançada de progressão.<sup>12</sup>



**Figura 1:** TC e RMN-CE em corte coronal de CPC trato nasossinusal.

Retirado de: Llorente, J. L., López, F., Suárez, C., & Hermesen, M. A. (2014). *Sinonasal carcinoma: Clinical, pathological, genetic and therapeutic advances. Nature Reviews Clinical Oncology*, 11(8), 460–472.



**Figura 2:** Histologia de CPC não queratinizado do trato nasossinusal.

Retirado de Lewis, J. S., Westra, W. H., Thompson, L. D. R., Barnes, L., Cardesa, A., Hunt, J. L., ... Ferlito, A. (2014). The Sinonasal Tract: Another Potential “Hot Spot” for Carcinomas with Transcriptionally-Active Human Papillomavirus. *Head and Neck Pathology*, 8(3), 241–249

Em relação ao estadiamento, este é definido pelo número e tipos de estruturas locais envolvidas nos tumores precoces, e, para os tardios, a invasão de estruturas adjacentes, incluindo tecido mole orbital, base do crânio e/ou pele facial/nasal, todos constituindo classificação de tumores como T4. As metástases ganglionares são relativamente incomuns (10 a 20%) à apresentação, e no *follow up*, 10% desenvolve metástases à distância, quase sempre na presença de recorrência locoregional.<sup>12,17</sup>

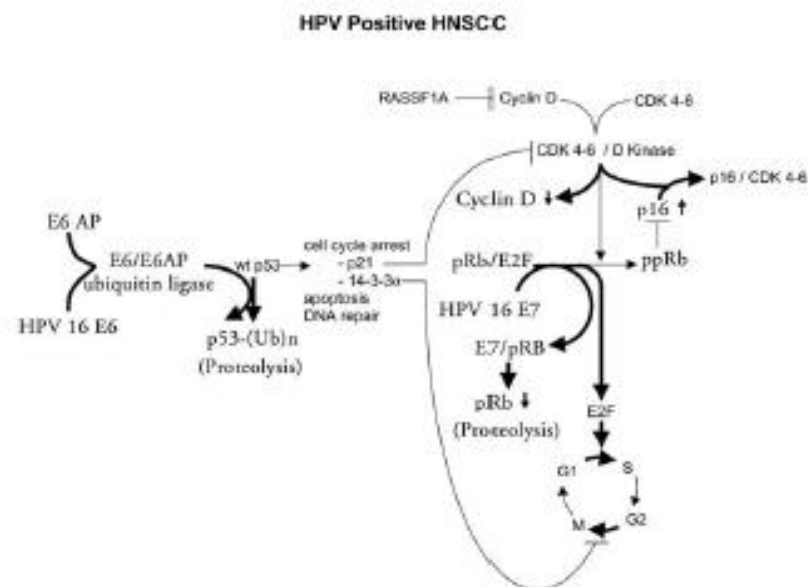
## ***Papel Oncogénico do HPV***

O vírus do papiloma humano é um vírus de DNA com tropismo específico para o epitélio pavimentoso, com mais de 120 tipos diferentes isolados e com diferente risco oncogénico. Os tipos de HPV que afetam a mucosa são categorizados de acordo com o seu potencial oncogénico em alto risco: (HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58 e -59) e baixo risco (HPV-6 e -11).<sup>18,19</sup>

O HPV integra-se no genoma celular do hospedeiro, promovendo a estabilidade do vírus. A integração de DNA de HPV na célula hospedeira leva à disrupção do gene viral E2, resultando numa perda da sua função de regulação da transcrição das oncoproteínas E6 e E7 e consequentemente no aumento da transcrição destas. A carcinogénese mediada por HPV deve-se principalmente à atividade destas duas oncoproteínas virais E6 e E7, que têm um papel na transformação celular e imortalização. Assim, ocorre uma desregulação de dois mecanismos celulares cruciais: o ciclo celular e a via apoptótica.<sup>19</sup>

A proteína E6 do HPV forma um complexo com uma ubiquitina ligase, levando à ubiquitinação da proteína supressora de tumor p53, resultando na degradação e inatividade desta. A oncoproteína E7 liga-se ao complexo ligase-2-culina-ubiquitina e ubiquitina a proteína supressora de tumor do retinoblastoma (pRb), inativando-a funcionalmente. Devido à ausência de função da pRb, a família E2F de fatores de transcrição é libertada, levando à transcrição de genes da fase S, com transição da fase G1 para a fase S do ciclo celular. Esta inativação de Rb pela oncoproteína E7 é também responsável pela marcada sobreexpressão da proteína p16, um inibidor da cinase dependente de ciclina. Esta sobreexpressão tem sido extensamente documentada em carcinomas associados a HPV.<sup>7, 19-23</sup>

A detecção de DNA de HPV nas células neoplásicas suporta a ideia de que o HPV está ‘associado’ com o desenvolvimento de neoplasia. No entanto, é importante distinguir se a sua detecção indica que o HPV é transcricionalmente ativo, e portanto, que promove carcinogénese, (*driver infection*) ou transcricionalmente inativo (*passenger or bystander infection*).<sup>24</sup>



**Figura 3:** Esquema de mecanismos de alteração das vias p53 e pRb em neoplasias da cabeça e do pescoço relacionadas com HPV

Retirado de Gillison ML . *Human papillomavirus-associated head and neck cancer is a distinct epidemiologic, clinical, and molecular entity* . *Semin Oncol* . 2004 ; 31 ( 6 ) : 744 – 754

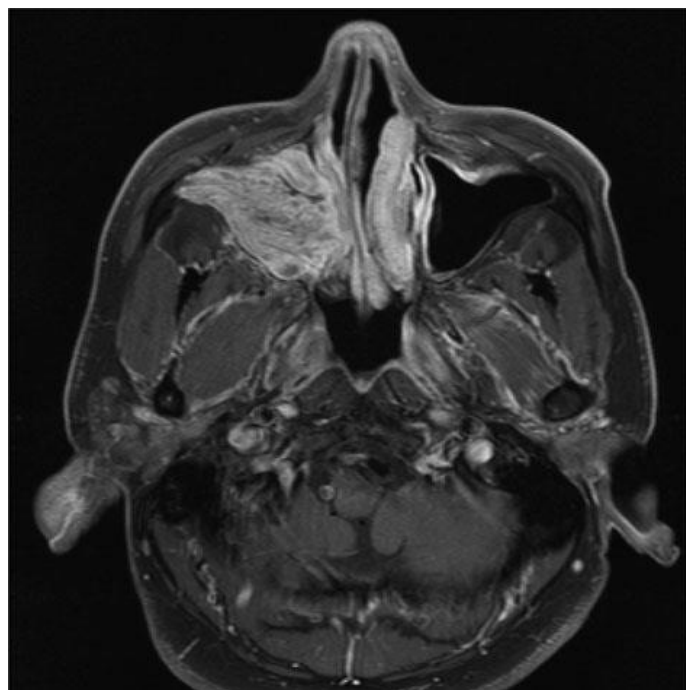
### ***Lesões precursoras dos Carcinomas Pavimento Celulares Nasossinusais e relação com HPV***

Os papilomas nasossinusais constituem cerca de 0,4-4,7% de todos os tumores nasais. São tumores epiteliais benignos com origem na membrana schneideriana, uma mucosa respiratória nasossinusal derivada da ectoderme, composta por epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado com um componente secretório.<sup>25</sup>

Existem 3 tipos morfológicos de papilomas nasossinusais: papiloma exofítico; papiloma invertido e papiloma oncocítico, condicionando diferentes implicações na etiologia, patogênese, recorrência e transformação das lesões. Os papilomas invertido e oncocítico originam-se mais frequentemente em doentes na 5ª ou 6ª décadas de vida, enquanto que os exofíticos originam-se em doentes na 3ª a 5ª décadas de vida. No entanto, estes três tipos podem ocorrer em indivíduos de qualquer idade. Clinicamente, são tumores largos e volumosos, com vascularização proeminente, podendo afetar a mucosa de todo o sistema dos seios perinasais. Os papilomas invertido e os oncocítico originam-se caracteristicamente na parede lateral da cavidade nasal e/ou nos seios perinasais, enquanto que os exofíticos são quase sempre vistos no septo nasal, particularmente na porção anteroinferior deste. A extensão para a faringe, ouvido externo e mastóide foi reportada ocasionalmente; são tumores bilaterais em 8% dos casos.<sup>25-31</sup>

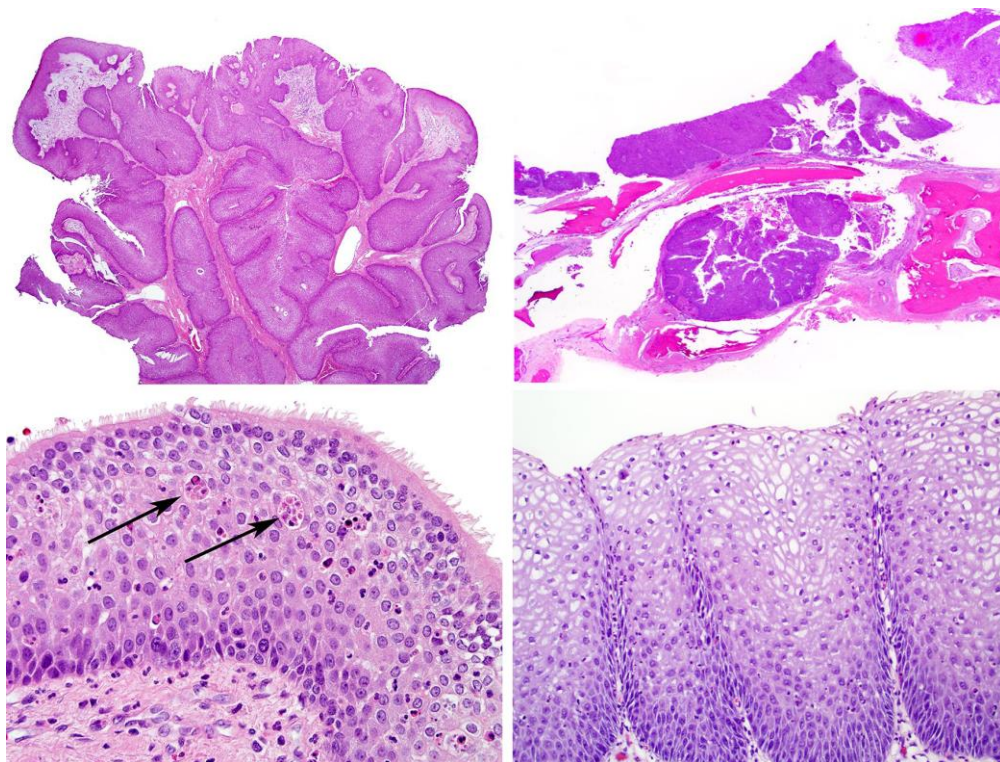
Os papilomas invertidos representam o subtipo mais diagnosticado de papilomas nasossinusais com uma incidência de 0,74-1,5 casos em 100 000 pessoas por ano. Geralmente originam-se na parede lateral nasal, células etmoides, seios maxilares, e menos frequentemente, nos seios frontais e esfenoidais. A apresentação é geralmente unilateral (mais de 90% dos doentes), mas o envolvimento bilateral do trato nasossinusal tem sido relatado, com incidências entre os 1% e os 9%.<sup>32</sup> Este tipo de papiloma é caracterizado pelo padrão de crescimento endofítico, constituindo uma alteração polipóide da mucosa, onde o epitélio pavimentoso metaplásico substitui gradualmente o epitélio respiratório da superfície. O epitélio respiratório residual permanece misturado com o epitélio metaplásico, criando junções pavimento-cilíndricas, permanecendo espaços microquísticos no epitélio pavimentoso, considerado um indicador da metaplasia pavimentosa progressiva.<sup>26-28</sup>





**Figura 4:** RMN-CE em corte axial de papiloma invertido direito.

Retirado de: Anari, S., & Carrie, S. (2010). *Sinonasal inverted papilloma: Narrative review. Journal of Laryngology and Otology*, 124(7), 705–715.



**Figura 5:** Histologia de papiloma invertido.

Retirado de Bishop, J. A. (2017). OSPs and ESPs and ISPs, Oh My! An Update on Sinonasal (Schneiderian) Papillomas. *Head and Neck Pathology*, 11(3), 269–277.

O papel do HPV tem sido hipotetizado, especialmente devido à sua associação com outros papilomas no corpo, com o desenvolvimento de papilomas nasossinusais. Existem semelhanças clínicas entre as lesões provocadas por HPV em outras localizações corporais com os papilomas nasossinusais, que incluem semelhanças morfológicas, a multicentricidade das lesões, a invasão com disseminação em tecidos circundantes, para além da tendência para recorrência e potencial de transformação maligna.<sup>25</sup> A maioria dos papilomas exofíticos, os que mais se assemelham com papilomas do tipo pavimentoso noutros órgãos, estão associados aos tipos de HPV de baixo risco, especialmente o 6 e 11, sendo que os tipos de HPV de alto risco não são encontrados neste tipo de papilomas. O papel do HPV nos papilomas invertidos permanece por esclarecer, apresentando taxas de deteção nestas lesões que variam dos 0% a 100%.<sup>26</sup> As taxas publicadas de carcinomas pavimento celulares encontrados em relação com papilomas invertidos variam entre os 2 a 27%, podendo ter uma apresentação síncrona, em que o carcinoma está presente na apresentação primária do papiloma invertido, ou metácrona, quando carcinoma se desenvolve após a deteção inicial e tratamento do papiloma.<sup>17</sup>

Numa revisão da literatura, Lawson *et al* mostrou que o DNA de HPV estava presente em aproximadamente 20-25% dos papilomas invertidos, sendo que 22,3% dos papilomas invertidos sem displasia ou displasia ligeira continham HPV de baixo ou alto risco, havendo uma taxa maior de deteção de HPV de alto risco em papilomas invertidos com displasia (55,8%) ou carcinoma pavimento- celular (55,1%). O rácio de HPV de baixo risco/alto risco era também desviado para papilomas com displasia ou carcinoma, sendo de 4,8:1 em papilomas invertidos sem displasia ou carcinoma, 1,1:1 em papilomas com displasia grave e 1:2,4 para os carcinomas pavimento celulares.<sup>33</sup>

A literatura corrente sugere uma taxa de transformação maligna de papiloma schneideriano de 10%, variando entre os 5 e os 27%, sendo que a meta análise de Re *et al* encontrou uma taxa global de transformação maligna de papilomas invertidos de 9%.<sup>32</sup>

Não existem características histológicas que sejam preditoras de transformação maligna nos papilomas. Os carcinomas são reconhecidos histologicamente pelas suas características celulares malignas, como pleomorfismo celular ou anaplasia, aumento da taxa mitótica, mitoses atípicas e necrose típicas de carcinomas nasossinusais. Os principais achados histológicos confirmam mais frequentemente carcinomas pavimento

celulares como os resultantes da transformação maligna de papilomas invertidos, apesar de já terem sido reportados adenocarcinomas, carcinomas mucoepidermóides, carcinoma indiferenciado nasossinusal, carcinoma de pequenas células e carcinoma não especificado em associação com papilomas schneiderianos.<sup>34</sup>

Os resultados dos estudos já realizados na tentativa de estabelecer o possível papel do HPV na transformação maligna de papilomas schneiderianos em carcinomas pavimento celulares nasossinusais têm sido conflituosos. As razões apontadas para esta inconsistência são o tamanho de amostras de papiloma invertido maligno ser frequentemente demasiado pequeno para determinar esta associação, o que pode levar à falta de significância estatística; por outro lado, a maioria destes estudos utilizam tecido embebido em parafina, com o risco de levar à degradação de DNA, a utilização de diferentes meios de deteção de DNA de HPV e ainda, outros fatores possíveis geográficos ou ambientais poderão explicar as divergências encontradas.<sup>35</sup>

Uma meta-análise de Zhao *et al* avaliou 31 estudos que se incidiram na associação entre a infeção por HPV e a transformação maligna de papilomas invertidos. Um total de 152 casos de papilomas invertidos malignos e 972 casos de papilomas invertidos não malignos utilizados como controlo foram incluídos na análise, tendo sido observada uma associação estatisticamente significativa entre a infeção por HPV e a malignidade dos papilomas invertidos (*odds ratio*: 2,16). Quando estratificado pelo tipo de HPV, foi demonstrada uma associação significativamente positiva para doentes com tipos de HPV de alto risco, HPV-16, -18 e -16/18 (*odds ratio* 8,8; 8,04; 18,57; 26,24, respetivamente), mas sem associação significativa para doentes com neoplasias em que foram detetados tipos de HPV de baixo risco, HPV-6, -11, -6/11 (*odds ratio* 1,16; 1,48; 1,52; 1,27, respetivamente). Realizaram ainda uma sub-análise para determinar se os *odds ratio* para HPV de alto risco, HPV-16 e HPV-18, incluindo apenas estudos em que a técnica de PCR foi utilizada, mantendo-se os resultados estatisticamente significativos. No total, houve uma associação positiva entre papilomas invertidos HPV-positivos e a malignidade destes. No entanto, o autor desta meta análise realça que foi apenas demonstrada uma associação que não fornece evidência causal de que a presença de HPV detetado nos papilomas invertidos seja responsável pela transformação maligna destes, não sendo de excluir que tenha ocorrido infeção por HPV após a transformação para malignidade.<sup>35</sup>

Apesar da detecção de DNA de HPV de alto risco por PCR em papilomas invertidos e do facto que 50% dos carcinomas pavimento celulares com origem em papilomas invertidos também serem positivos para HPV, a maioria dos carcinomas com HPV transcricionalmente ativo não tem origem no contexto clínico de um papiloma.<sup>2</sup> No estudo de Alos *et al*, os doentes com carcinoma pavimento celular com história de papiloma invertido prévio, apenas 1 tumor tinha HPV transcricionalmente positivo. No entanto, dos doentes com carcinoma pavimento celular negativos para HPV transcricionalmente ativo, 11 (22,9%) tinham história prévia de papiloma invertido.<sup>36</sup> Nas séries de Bishop *et al*, em apenas 1 dos seus 16 doentes com carcinoma pavimento celular com/a partir de papiloma invertido foi detetado HPV transcricionalmente ativo.<sup>9</sup> Estes achados sugerem que, paradoxalmente, apesar de HPV estar associado a fisiopatologia de papiloma invertido e desenvolvimento de carcinomas pavimento celulares, estes quando estabelecidos não parecem reter, ou não são conduzidos por HPV de alto risco ativo.<sup>2</sup>

Assim, existe atualmente relutância em aceitar inequivocamente o HPV como um agente de transformação maligna de papilomas schneiderianos, pois apenas a detecção da presença de HPV nos papilomas não é suficiente para se afirmar que estes tenham um papel na patogénese e transformação maligna em carcinomas pavimento celulares. O facto de já ter sido detetado DNA de HPV em mucosa nasossinusal normal, apesar de pouco frequente, aliado aos baixos níveis de atividade transcricional de HPV nos papilomas schneiderianos, à presença de ambos os subtipos de alto risco e os de baixo risco de HPV nos papilomas sem qualquer correlação consistente com o tipo histológico ou a presença de displasia e a falta de sobreexpressão de p16 (um *surrogate marker* de HPV transcricionalmente ativo) consistente apesar da presença de DNA de HPV de alto risco, levam à suspeita por parte dos investigadores de que a presença de HPV poderá apenas representar uma colonização secundária viral.<sup>19</sup>

## ***Deteção de HPV nos Carcinomas Pavimento Celulares***

O DNA de HPV é frequentemente detetado em carcinomas pavimento celulares da cabeça e do pescoço em todos os subloais anatómicos, particularmente quando detetado por PCR. No entanto, para ter relevância clínica, o HPV tem de ser transcricionalmente ativo, o que atualmente tem sido estabelecido por detecção direta de mRNA E6 e E7 de HPV de alto risco em tumores por RT-PCR, ou por detecção de DNA



de HPV por PCR ou ISH combinado com expressão extensa de p16 nuclear e citoplasmática.<sup>2</sup> Entre os sublocais anatómicos da cabeça e do pescoço, esta detecção ocorre mais frequentemente na orofaringe, sendo que os carcinomas da orofaringe têm uma taxa de associação com HPV de até 80%.<sup>8</sup>

Devido à forte relação entre os carcinomas pavimento celulares da orofaringe e o HPV, algoritmos diagnósticos validados para a detecção deste vírus nos carcinomas da orofaringe estão agora bem estabelecidos, utilizando-se imunohistoquímica para a detecção da sobreexpressão de p16, ISH DNA, ISH RNA e PCR. Recentemente, estabeleceu-se como *gold standard* a detecção de mRNA HPV E6/E7 de alto risco para identificar a presença de HPV transcricionalmente ativo. Com o avançar tecnológico e científico dos ensaios de detecção, está agora a clarificar-se a verdadeira incidência, distribuição e relevância de carcinogênese relacionada com HPV nas neoplasias da cabeça e do pescoço: os métodos de PCR quantitativo permitem distinguir padrões clonais e não clonais (contaminantes ou vírus passageiros) de infecção por HPV; a hibridização *in situ* de DNA permite a visualização direta da distribuição de HPV nos tecidos e a imunohistoquímica de p16 facilita o reconhecimento de disrupção induzida por HPV da via supressora de tumor Rb. O desenvolvimento recente de hibridização *in situ* de sondas de RNA complementares ao mRNA E6/E7 permite a visualização direta de transcritos virais.<sup>7</sup>

No entanto, estes protocolos de diagnóstico de ensaios para a detecção de HPV nas neoplasias da cabeça e pescoço estão limitados aos carcinomas da orofaringe associado a HPV, não estando validados *surrogate markers*, limites de detecção e algoritmos de diagnóstico nas neoplasias do trato nasossinusal, resultando em marcada heterogeneidade e falta de estandardização nos métodos de testes de HPV nestes tumores.<sup>19</sup> Para a implementação generalizada na área clínica, os métodos de detecção devem ser precisos e custo efetivos. Por exemplo, a imunohistoquímica de proteínas virais é pouco exigente e barato de se realizar, mas tem sido demasiado inconsistente em estudos para ser utilizado como um método de detecção fiável. Por outro lado, a detecção de transcritos de mRNA E6/E7 considerada o *gold standard* de detecção de HPV implica a necessidade de experiência e um processamento tecidular complexo que limitam a sua aplicação como uma ferramenta de diagnóstico de rotina.<sup>7</sup>

Estes estudos de validação, incluindo a estudos que incidam sobre utilidade da imunohistoquímica de p16 estão ainda a ser realizados nos carcinomas nasossinuais.

Até esses dados se tornarem disponíveis, as diferentes investigações realizadas têm utilizado uma combinação de imunohistoquímica de p16 seguida de ISH DNA, ISH RNA ou PCR específico de tipo para determinar o estado de HPV nos carcinomas nasossinusais. A expressão difusa forte de p16 não foi universalmente aceita como um *surrogate marker* de HPV nos carcinomas nasossinusais, pois este padrão de sobreexpressão de p16 tem sido detectado em carcinomas não diferenciados nasossinusais HPV negativos.<sup>24</sup>

O estudo de Laco *et al*<sup>37</sup> avaliou a presença de transcritos de mRNA E6/E7 de HPV de alto risco em carcinomas do trato nasossinusal. Neste estudo, 10% dos carcinomas pavimento celulares teve origem com ou a partir de papilomas invertidos, sendo todos negativos para HPV por ISH/PCR negativos, sendo apenas um positivo para sobreexpressão de p16 e mRNA E6/E7 HPV por ISH positivo. Mais uma vez estes dados indicam que, apesar de HPV de alto risco poder contribuir para a formação de papilomas invertidos, os carcinomas pavimento celulares que se desenvolvem no *background* não retêm na sua maioria HPV transcricionalmente ativo. Encontraram uma correlação estatisticamente significativa entre detecção de p16 por imunohistoquímica e o *status* de HPV, confirmando o p16 como um *surrogate marker* fiável para status de HPV em carcinomas pavimento celulares nasossinusais, tal como ocorre na orofaringe. No entanto está por validar a utilização do p16 como um marcador nos restantes carcinomas do trato nasossinusal.<sup>37</sup> Neste estudo, 41% dos carcinomas não queratinizados/não queratinizados com maturação e apenas 6% dos carcinomas pavimento celulares queratinizados eram positivos para DNA de HPV. O epitélio displásico pavimentoso adjacente ao carcinoma pavimento celular invasivo positivo também era positivo para mRNA de E6/E7. Na análise de transcritos de mRNA E6/E7 de HPV por RT-PCR, 13% dos carcinomas era positivo para a presença dos transcritos, nomeadamente os tipos de HPV 16, 18 e 35 foram detetados. No total, 83% dos casos HPV positivos evidenciava uma infeção por HPV transcricionalmente ativa. A correlação entre a imunohistoquímica de p16 e a detecção por ISH ou PCR de mRNA E6/E7 de HPV era mais forte do que a correlação entre a imunohistoquímica de p16 e a detecção de DNA por ISH/PCR.<sup>37</sup>

Num outro estudo, por Larque *et al*, também procuraram detetar transcritos de mRNA de E6/E7 por ISH, uma análise por transcriptase reversa-PCR em 27 casos revelou a presença de expressão de mRNA E7 de HPV do tipo 16 em 7 casos positivos

para HPV 16 por PCR, sendo que nos restantes sete casos positivos para HPV por PCR apenas, foi descrito que o RNA não atingiu qualidade para análise de mRNA apropriada.<sup>20</sup>

Num estudo de Bishop *et al*, utilizando uma abordagem que combinou a visualização direta de DNA de HPV de alto risco e a detecção de sobreexpressão de p16, estabeleceram a presença de HPV biologicamente ativo em 21% dos carcinomas nasossinusais, sendo os pavimento celulares os mais prováveis de estar relacionados com o HPV. Cerca de 1/3 de todos os carcinomas pavimento celulares nasossinusais era simultaneamente positivo para HPV de alto risco e positivo para a sobreexpressão de p16, sendo os subgrupos não queratinizado e basalóide os mais consistentemente relacionados com HPV. Assim, a forte associação entre HPV e o fenótipo não queratinizado e basalóide documentado na orofaringe parece estar preservada no trato nasossinusal.<sup>9</sup>

Finalmente, uma meta-análise realizada por Syrjänen *et al* de 2013 avaliou toda a literatura publicada sobre a detecção de HPV em carcinomas pavimento celulares nasossinusais. Um total de 35 estudos foram considerados elegíveis para a meta análise, compreendendo 492 carcinomas nasossinusais analisados por diferentes métodos de detecção de HPV, que incluíam hibridização por *dot blot*, ISH e PCR. Dos 492 carcinomas pavimento celulares analisados, 133 (27,0%) eram HPV positivos. Os resultados da meta análise sugeriam que a prevalência de HPV variava de acordo com o método de detecção de HPV e a origem geográfica. No entanto, na meta análise estratificada, esta variabilidade atingiu significância estatística apenas para a origem geográfica, e, na meta regressão formal, nenhuma destas duas características de estudo foi uma co-variável significativa responsável pela heterogeneidade de prevalência de HPV. Assim, a heterogeneidade nas taxas de detecção de HPV em carcinomas pavimento celulares nasossinusais não era explicada pelo método de detecção de HPV ou a origem geográfica do estudo.<sup>38</sup>

Para determinar se, tal como ocorre nos carcinomas pavimento celulares da orofaringe, a positividade de HPV está mais associada aos do subtipo não queratinizado, El Mofty *et al*, num estudo que avaliou 39 casos de carcinomas nasais e de seios perinasais, encontraram uma taxa de casos DNA HPV positivo/p16-positivo era maior em carcinomas pavimento celulares não queratinizados do que nos queratinizados. A

incidência de HPV em carcinomas pavimento celulares não queratinizados varia de 34% a 58% comparado com os 0 a 5% nos carcinomas pavimento celulares queratinizados.<sup>39</sup>

No estudo de Laco *et al* de 2015, em 49 casos de carcinomas nasossinusais com detecção de HPV, 27 (55%) eram carcinomas pavimento celulares não queratinizados/não queratinizados com maturação, e apenas 16 (33%) eram do tipo queratinizado, sendo que destes, apenas 2 (13%) eram HPV positivos por ISH e PCR (HPV 18 e 35). Em contraste, dos 27 carcinomas pavimento celulares não queratinizados/não queratinizados com maturação, em 11 (41%) foi detectado HPV de alto risco (HPV 16 e 18) transcricionalmente ativo, 10 dos quais eram também positivos para sobreexpressão de p16.<sup>37</sup>

## **Prognóstico**

O tratamento de carcinomas pavimento celulares nasossinusais varia dependendo do estadió, *performance status* do doente, comorbilidades e tipo de tumor. No entanto, a ressecção cirúrgica com radioterapia pós-cirúrgica parece ser a abordagem ótima. A proximidade destes tumores a estruturas críticas como o nervo ótico, a base do crânio e o sistema nervoso central contribui para o mau prognóstico. As abordagens endoscópicas estão a aumentar em uso por serem menos invasivas, menos mórbidas e com menos complicações cirúrgicas. Apesar de margens negativas serem adversas na ressecção de neoplasia nasossinusal, a cirurgia com margens largamente negativas não é claramente melhor que as mais conservadoras, desde que as margens clinicamente negativas sejam atingidas.<sup>12</sup>

A sobrevivência média aos 5 anos em doentes com neoplasias nasossinusais é de 40%, e de 60% especificamente nos carcinomas pavimento celulares. Os doentes com tumores dos seios perinasais primários têm pior prognóstico do que aqueles com tumores da cavidade nasal, provavelmente secundário à apresentação de sintomas mais precoce nos carcinomas com origem na cavidade nasal, levando a um diagnóstico mais precoce.<sup>10-11</sup>

Em relação à histologia, não é claro se a caracterização patológica dos carcinomas pavimento celulares (diferenciação ou variante) prediz prognóstico, apesar de o número de doentes com variantes específicos ser muito pequeno para informar sobre o prognóstico relativamente uns aos outros.<sup>17</sup>

## ***HPV e Prognóstico nos Carcinomas Pavimento Celulares Nasossinusais***

Nos carcinomas pavimento celulares da orofaringe, o HPV é um fator prognóstico independente de sobrevivência.<sup>4</sup> Vários mecanismos que expliquem a melhoria da sobrevivência têm sido postulados, nomeadamente uma maior resposta à radioterapia. A degradação de p53 relacionada com E6 nos carcinomas HPV positivos pode ser funcionalmente não equivalente às mutações p53 em carcinomas HPV negativos e portanto, os tumores HPV positivos podem ter uma resposta apoptótica intacta à radiação e quimioterapia.<sup>4,18</sup> Assim, a maior taxa de sobrevida deve-se em parte a um maior controlo locorregional, refletindo uma maior sensibilidade intrínseca à radiação ou uma melhor radio sensibilização com o uso da cisplatina.<sup>4</sup>

Em relação aos carcinomas pavimento celulares nasossinusais, o primeiro estudo que analisou o prognóstico dos doentes com carcinomas HPV positivos comparativamente aos HPV negativos foi realizado por Alos *et al* em 2009. Neste estudo, a sobrevivência média livre de doença e a sobrevivência global média no grupo HPV positivo foi de 36 meses e 53 meses, respetivamente. No grupo HPV negativo, a sobrevivência média livre de doença foi de 14 meses e a sobrevivência global média foi de 20,5 meses. Assim, doentes com carcinoma pavimento celular HPV positivo tiveram uma sobrevivência livre de progressão estatisticamente superior à dos doentes com tumores HPV negativos. A sobrevivência livre de progressão estimada ao 1 ano, 2 e 5 anos para os doentes HPV positivos foi de 100%, 100% e 62%, respetivamente, enquanto que no grupo HPV negativo foi de 57%, 34% e 20%.<sup>36</sup>

A sobrevivência global para doentes com tumores HPV positivos melhorou significativamente comparado com os doentes com tumores HPV negativos. A sobrevivência global estimada ao 1 ano, 2 e 5 anos foi de 100%, 100% e 80% para doentes com neoplasia HPV positiva e de 78%, 54% e 31% para os doentes com carcinoma HPV negativo. Na análise univariada, o status de HPV, a localização do tumor e o estadio estavam associados ao *outcome* de sobrevivência livre de progressão, enquanto que o status de HPV e a histologia do tumor estavam associados à sobrevivência global. Na análise multivariada, o *status* de HPV reteve significância estatística para a sobrevivência livre de progressão.<sup>36</sup>

Posteriormente, os mesmos autores realizaram um estudo com 70 doentes. A sobrevivência média livre de doença no grupo com carcinoma com detecção positiva para HPV foi de 65,8 meses, enquanto que no grupo com carcinoma negativo para a detecção de HPV foi de 30,47 meses; sendo os resultados estatisticamente significativos. Em relação à sobrevivência global média, no grupo com neoplasia HPV positiva foi de 156,8 meses, enquanto que no grupo com neoplasia HPV negativa foi de 72 meses. Estes resultados também foram estatisticamente significativos.<sup>20</sup>

Num estudo de Bishop *et al*, que avaliou o *outcome* em 161 doentes com carcinomas nasossinuais relacionados com HPV, o tempo de sobrevida médio foi de 6,7 anos, e as taxas de sobrevivência aos 5 anos e 10 anos foram de 58,7% e 46,2%, respetivamente, para doentes com carcinomas de qualquer tipo HPV negativo. A sobrevida média em doentes com carcinomas de qualquer tipo HPV positivo não foi atingido, e a sobrevivência a 5 anos e 10 anos foi de 71,2% e 61,0%, respetivamente. O *hazard rate* entre os doentes com carcinoma HPV negativo foi 72% mais elevado do que em doentes com carcinoma HPV positivo (*hazard ratio*=1,72), e após ajustado para idade e sexo, foi de 1,34. Quando restrito a carcinoma pavimento celular, a sobrevivência média dos casos com carcinoma pavimento celular HPV negativo foi de 5,5 anos, e as taxas de sobrevivência a 5 anos e 10 anos foram de 50,6% e 42,7%, respetivamente. A sobrevivência média entre doente com carcinomas pavimento celulares HPV positivos não foi atingido, com taxas de sobrevivência a 5 anos e 10 anos de 69,7% e 55,67%, respetivamente. O *hazard rate* entre doentes com carcinoma pavimento celular HPV negativo foi 80% maior do que com carcinoma pavimento celular HPV positivo (*hazard ratio* = 1,80), e após ajustar para idade e sexo, foi de 1,17.<sup>9</sup>

Num estudo de Chowdhury *et al*, um total de 26 doentes com carcinoma pavimento celular da cavidade nasal foram analisados. A maioria dos doentes apresentava-se com estadio de doença avançada ao diagnóstico, sendo todos os doentes submetidos a ressecção cirúrgica do tumor por abordagem endoscópica ou aberta e todos submetidos a quimioterapia e radioterapia adjuvantes. A sobrevivência global do coorte inteiro dos doentes foi de 36,6 meses. A sobrevivência média para doentes com carcinoma pavimento celular nasossinusal HPV-negativo foi de 12 meses comparado com os 54 meses de doentes com carcinoma pavimento celular nasossinusal HPV positivo, uma diferença estatisticamente significativa. O coorte HPV positivo teve uma

vantagem média estatisticamente significativa de 42 meses sobre o grupo de doentes com carcinoma HPV negativo.<sup>40</sup>

Um estudo de Kılıc *et al*, avaliou o papel do significado da positividade de HPV nos carcinomas pavimento celulares nasossinusais: um total de 770 casos de carcinomas pavimento celulares nasossinusais com *status* HPV conhecido foram identificados; 526 (68,3%) eram HPV negativos e 244 (31,7%) eram HPV positivos. Doentes com tumores HPV positivos eram mais novos que os doentes com tumores HPV negativos (idade média 58,0 anos versus 63,7 anos). A histologia, o grau e estadio T também foram afetados de forma estatisticamente significativa pelo *status* de HPV. Os tumores da cavidade nasal (49,4%) eram mais provavelmente HPV positivos do que os maxilares (18,8%), etmoide (18,8%) e frontal (18,2%). Os tumores não queratinizados de grandes células (42,4%), papilar (42,1%) e basalóide (56,5%) eram mais provavelmente HPV positivos do que os queratinizados (25,2%). A positividade para HPV estava associada a uma diminuição do risco de morte (*hazard ratio* 0,44). No global, os doentes com tumores HPV positivos tinham maior sobrevivência global aos 5 anos do que os com tumores HPV negativos. A sobrevivência global aos 5 anos foi de 68,1% para os casos HPV positivos e 51,5% para casos HPV negativos. Na análise por sublocal anatómico, a sobrevivência global para doentes com tumores HPV positivos era significativamente maior na cavidade nasal mas não nos seios etmoides; por subtipo histológico, os doentes com tumores HPV positivo tinham significativamente maior sobrevivência global nos carcinomas pavimento celular não especificado e nos subtipo queratinizado, mas não nos não queratinizados de grandes células. Apesar da positividade de HPV também parecer conferir uma vantagem de sobrevivência e a propensão para certos subtipos histológicos, nos carcinomas pavimento celulares nasossinusais, o padrão global de doença difere na mesma significativamente dos da orofaringe HPV positivos.<sup>3</sup>

## Conclusão

A evidência do papel do HPV nas neoplasias da cabeça e do pescoço continua a estudar-se, com diversos estudos a relatarem o significado positivo da detecção do vírus no *outcome* dos doentes. Se por um lado, nos carcinomas pavimento celulares da orofaringe esta associação está bem assente, levando a uma mudança efetiva na abordagem clínica do doente; no caso dos carcinomas com localização nasossinusal, ainda estão a ser realizados estudos que comprovem o envolvimento de HPV na carcinogénese e qual o seu significado a nível prognóstico. Vários estudos levaram à conclusão que o HPV estará presente em até cerca de 30% dos carcinomas pavimento celulares nasossinusais. No entanto, as diferentes metodologias de detecção utilizadas levam a uma heterogeneidade dos resultados, para além do facto de se tratar de uma neoplasia rara, e portanto, com amostras de estudo pequenas, sendo que os resultados não devem ser aceites inequivocamente. O desenvolvimento recente de técnicas que determinam a presença de vírus de HPV biologicamente ativo reforça a evidência do seu papel oncogénico. Em relação ao prognóstico dos doentes, apesar de existirem ainda poucos estudos que estudem a relação entre a presença de HPV nos carcinomas pavimento celulares nasossinusais e a sobrevivência dos doentes, estes parecem animadores e seguindo a tendência do que ocorre ao nível da orofaringe.

A relação do HPV com as neoplasias da cabeça e do pescoço é assim uma área de interesse crescente, e, a perspectiva de que, no trato nasossinusal, e potencialmente em outros locais não-orofaringe, se verifique a uma correlação positiva entre a presença de HPV e o prognóstico do doente, implica que no futuro, se possam implementar outras estratégias terapêuticas mais personalizadas e que visem as diferenças fisiopatológicas das neoplasias da cabeça e do pescoço, possibilitando uma melhoria na sobrevida e qualidade de vida do doente.



## Agradecimentos

Agradeço de forma especial a orientação e disponibilidade do Doutor Paulo Borges Dinis, e também, pelo apoio prestado na realização deste trabalho e dedicação aos alunos, ao Professor Doutor Óscar Dias.

Aos meus colegas e amigos, que sempre me acompanharam, e de alguma forma contribuíram para o meu percurso, durante estes 6 anos.

À minha família, particularmente a minha mãe e irmã que, apesar de longe, continuam a ser o meu porto de abrigo e a quem devo a pessoa que sou.

## Bibliografia

- 1- Gillison ML . Human papillomavirus-associated head and neck cancer is a distinct epidemiologic, clinical, and molecular entity . *Semin Oncol* . 2004 ; 31 ( 6 ): 744 – 754 . )
- 2- Lewis, J. S., Westra, W. H., Thompson, L. D. R., Barnes, L., Cardesa, A., Hunt, J. L., ... Ferlito, A. (2014). The Sinonasal Tract: Another Potential “Hot Spot” for Carcinomas with Transcriptionally-Active Human Papillomavirus. *Head and Neck Pathology*, 8(3), 241–249. <https://doi.org/10.1007/s12105-013-0514-4>
- 3- Kılıç, S., Kılıç, S. S., Kim, E. S., Baredes, S., Mahmoud, O., Gray, S. T., & Eloy, J. A. (2017). Significance of human papillomavirus positivity in sinonasal squamous cell carcinoma. *International Forum of Allergy and Rhinology*, 7(10), 980–989. <https://doi.org/10.1002/alr.21996>
- 4- Ang, K. K., Harris, J., Wheeler, R., Weber, R., Rosenthal, D. I., Nguyen-Tân, P. F., ... Gillison, M. L. (2010). Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *The New England Journal of Medicine*, 363(1), 24–35. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0912217>
- 5- Gillison ML, D’Souza G, Westra W, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(6):407–20.
- 6- Wenig, BM.; Barnes, L.; Carlson, DL., et al. Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Carcinomas of the Pharynx. Based on AJCC/UICC/TNM 7th ed. College of American Pathologists; Available from URL: <http://www.cap.org>
- 7- Bishop, J. A., Ma, X. J., Wang, H., Luo, Y., Illei, P. B., Begum, S., ... Westra, W. H. (2012). Detection of transcriptionally active high-risk HPV in patients with head and neck squamous cell carcinoma as visualized by a novel E6/E7 mRNA in situ hybridization method. *American Journal of Surgical Pathology*, 36(12), 1874–1882. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e318265fb2b>
- 8- Stelow, E. B., & Bishop, J. A. (2017). Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Nasal Cavity, Paranasal Sinuses and Skull Base. *Head and Neck Pathology*, 11(1), 3–15. <https://doi.org/10.1007/s12105-017-0791-4>

- 9- Bishop, J. A., Guo, T. W., Smith, D. F., Wang, H., Ogawa, T., Pai, S. I., & Westra, W. H. (2013). Human papillomavirus-related carcinomas of the sinonasal tract. *American Journal of Surgical Pathology*, 37(2), 185–192. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3182698673>
- 10- Turner, J. H. & Reh, D. D. Incidence and survival in patients with sinonasal cancer: a historical analysis of population-based data. *Head Neck* 34, 877–885 (2012).
- 11- Sanghvi, S., Khan, M. N., Patel, N. R., Yeldandi, S., Baredes, S., & Eloy, J. A. (2014). Epidemiology of sinonasal squamous cell carcinoma: A comprehensive analysis of 4994 patients. *Laryngoscope*, 124(1), 76–83. <https://doi.org/10.1002/lary.24264>
- 12- Llorente, J. L., López, F., Suárez, C., & Hermesen, M. A. (2014). Sinonasal carcinoma: Clinical, pathological, genetic and therapeutic advances. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 11(8), 460–472. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2014.97>
- 13- Of, A. R., Carcinogens, H., Monographs, I., Evaluation, O. N. T. H. E., Risks, O. F. C., & Humans, T. O. (2012). and Dusts. *Iarc Monographs*, 100(Arsenic, metals, fibres, and dusts), 407–443. Retrieved from <https://www.iarc.fr/>
- 14- Hayes, R. B., Gerin, M., Raatgever, J. W., & Debruyn, A. (1986). Wood Dust Exposure and Sinonasal Cancer - Temporal Factors. *American Journal of Epidemiology*, 124(3), 499.
- 15- Bonzini, M. *et al.* Prevalence of occupational hazards in patients with different types of epithelial sinonasal cancers. *Rhinology* 51, 31–36 (2013).
- 16- World Health Organization International Agency for Research on Cancer. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Wood dust and formaldehyde* Vol. 62 (IARC press, 1995).
- 17- Lewis, J. S. (2016). Sinonasal Squamous Cell Carcinoma: A Review with Emphasis on Emerging Histologic Subtypes and the Role of Human Papillomavirus. *Head and Neck Pathology*, 10(1), 60–67. <https://doi.org/10.1007/s12105-016-0692-y>
- 18- Fakhry, C., & Gillison, M. L. (2006). Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. *Journal of Clinical Oncology*, 24(17), 2606–2611. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.1291>

- 19- Thavaraj, S. (2016). Human papillomavirus-associated neoplasms of the sinonasal tract and nasopharynx. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 33(2), 104–111. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2015.09.011>
- 20- Larque, A. B., Hakim, S., Ordi, J., Nadal, A., Diaz, A., Pino, M. Del, ... Alos, L. (2014). High-risk human papillomavirus is transcriptionally active in a subset of sinonasal squamous cell carcinomas. *Modern Pathology*, 27(3), 343–351. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.155>
- 21- McLaughlin-Drubin, M. E., & Münger, K. (2009). Oncogenic activities of human papillomaviruses. *Virus Research*, 143(2), 195–208. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.06.008>
- 22- Chung, C. H., & Gillison, M. L. (2009). Human papillomavirus in head and neck cancer: Its role in pathogenesis and clinical implications. *Clinical Cancer Research*, 15(22), 6758–6762. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0784>
- 23- Ukpo, O., Flanagan, J., & Ma, X. (2011). E6/E7 mRNA detection by a novel in situ hybridization assay strongly correlates with p16 expression and patient outcomes in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *The American Journal ...*, 35(9), 1343–1350. Retrieved from [http://journals.lww.com/ajsp/Abstract/2011/09000/High\\_Risk\\_Human\\_Papillomavirus\\_E6\\_E7\\_mRNA.11.aspx](http://journals.lww.com/ajsp/Abstract/2011/09000/High_Risk_Human_Papillomavirus_E6_E7_mRNA.11.aspx)
- 24- Isayeva, T., Li, Y., Maswahu, D., & Brandwein-Gensler, M. (2012). Human Papillomavirus in Non-Oropharyngeal Head and Neck Cancers: A Systematic Literature Review. *Head and Neck Pathology*, 6(SUPPL. 1), 104–120. <https://doi.org/10.1007/s12105-012-0368-1>
- 25- Syrjänen, K. J. (2003). HPV infections in benign and malignant sinonasal lesions. *Journal of Clinical Pathology*, 56(3), 174–181. <https://doi.org/10.1136/jcp.56.3.174>
- 26- Bishop, J. A. (2017). OSPs and ESPs and ISPs , Oh My! An Update on Sinonasal ( Schneiderian ) Papillomas. *Head and Neck Pathology*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s12105-017-0799-9>
- 27- Barnes L, Eveson JW, Reichart P et al, editors. World health classification of tumors: head and neck. Lyon: IARC Press; 2005. p. 28–32.

- 28- Hunt JL, Bell D, Sarioglu S. Sinonasal papilloma, inverted type. In: el-Naggar A, Slootweg PJ, Chan JKC et al, editors. World health classification of tumors: head and neck. Lyon: IARC Press; 2017. p. 18–9.
- 29- Hunt JL, Chiosea S, Sarioglu S. Sinonasal papilloma, oncocytic type. In: el-Naggar A, Slootweg PJ, Chan JKC et al, editors. World Health Classification of Tumors: Head and Neck. Lyon: IARC Press; 2017. p. 19–20.
- 30- Hunt JL, Lewis JS, Richardson M, et al. Sinonasal papilloma, exophytic type. In: el-Naggar A, Slootweg PJ, Chan JKC et al, editors. World health classification of tumors: head and neck. Lyon: IARC Press; 2017. p. 20–1.
- 31- Bullock, M. J. (2016). Low-Grade Epithelial Proliferations of the Sinonasal Tract. *Head and Neck Pathology*, 10(1), 47–59. <https://doi.org/10.1007/s12105-016-0691-z>
- 32- Re, M., Gioacchini, F. M., Bajraktari, A., Tomasetti, M., Kaleci, S., Rubini, C., ... Pasquini, E. (2017). Malignant transformation of sinonasal inverted papilloma and related genetic alterations: a systematic review. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 274(8), 2991–3000. <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4571-2>
- 33- Lawson, W., Schlecht, N. F., & Brandwein-Gensler, M. (2008). The role of the human papillomavirus in the pathogenesis of schneiderian inverted papillomas: An analytic overview of the evidence. *Head and Neck Pathology*, 2(2), 49–59. <https://doi.org/10.1007/s12105-008-0048-3>
- 34- Anari, S., & Carrie, S. (2010). Sinonasal inverted papilloma: Narrative review. *Journal of Laryngology and Otology*, 124(7), 705–715. <https://doi.org/10.1017/S0022215110000599>
- 35- Zhao, R. W., Guo, Z. Q., & Zhang, R. X. (2016). Human papillomavirus infection and the malignant transformation of sinonasal inverted papilloma: A meta-analysis. *Journal of Clinical Virology*, 79, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.04.001>
- 36- Alos, L., Moyano, S., Nadal, A., Alobid, I., Blanch, J. L., Ayala, E., ... Ordi, J. (2009). Human papillomaviruses are identified in a subgroup of sinonasal squamous cell carcinomas with favorable outcome. *Cancer*, 115(12), 2701–2709. <https://doi.org/10.1002/cncr.24309>

- 37- Laco, J., Sieglová, K., Vošmíková, H., Dundr, P., Němejcová, K., Michálek, J., ... Ryška, A. (2015). The presence of high-risk human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA transcripts in a subset of sinonasal carcinomas is evidence of involvement of HPV in its etiopathogenesis. *Virchows Archiv*, 467(4), 405–415. <https://doi.org/10.1007/s00428-015-1812-x>
- 38- Syrjänen, K., & Syrjänen, S. (2013). Detection of human papillomavirus in sinonasal carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Human Pathology*, 44(6), 983–991. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2012.08.017>
- 39- El-Mofty, S. K., & Lu, D. W. (2005). Prevalence of high-risk human papillomavirus DNA in nonkeratinizing (cylindrical cell) carcinoma of the sinonasal tract: A distinct clinicopathologic and molecular disease entity. *American Journal of Surgical Pathology*, 29(10), 1367–1372. <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000173240.63073.fe>
- 40- Chowdhury, N., Alvi, S., Kimura, K., Tawfik, O., Manna, P., Beahm, D., ... Hoover, L. (2017). Outcomes of HPV-related nasal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*, 127(7), 1600–1603. <https://doi.org/10.1002/lary.26477>